

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
30. Juni 2005 (30.06.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/059093 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 15/77, C07K 14/34, C12N 1/21

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/014266

(22) Internationales Anmeldedatum:  
15. Dezember 2004 (15.12.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 59 594.5 18. Dezember 2003 (18.12.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BASF AKTIENGESSELLSCHAFT** [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KRÖGER, Burkhard** [DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE). **ZELDER, Oskar** [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346 Speyer (DE). **KLOPPROGGE, Corinna** [DE/DE]; Rastatter Str. 10, 68239 Mannheim (DE). **SCHRÖDER, Hartwig** [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nussloch (DE). **HAEFNER, Stefan** [DE/DE]; Luitpoldstrasse 11, 67063 Ludwigshafen (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: **BASF Aktiengesellschaft**; 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 2. März 2006

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: P EF-TU EXPRESSION UNITS

(54) Bezeichnung: P EF-TU-EXPRESSIONSEINHEITEN

(57) Abstract: The invention relates to the use of nucleic acid sequences for regulating gene transcription and expression, said novel promoters and expression units, methods for modifying or inducing the gene transcription rate and/or expression rate, expression cassettes containing said expression units, genetically modified microorganisms having a modified or induced transcription rate and/or expression rate, and methods for producing biosynthetic products by cultivating said genetically modified microorganisms.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Nukleinsäuresequenzen zur Regulation der Transkription und Expression von Genen, die neuen Promotoren und Expressionseinheiten selbst, Verfahren zur Veränderung oder Verursachung der Transkriptionsrate und/oder Expressionsrate von Genen, Expressionskassetten, enthaltend die Expressionseinheiten, genetisch veränderte Mikroorganismen mit veränderter oder verursachter Transkriptionsrate und/oder Expressionsrate sowie Verfahren zur Herstellung von biosynthetischen Produkten durch Kultivierung der genetisch veränderten Mikroorganismen.



WO 2005/059093 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/014266

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> C12N15/77      C07K14/34      C12N1/21		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N   C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, EMBL, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/40679 A (RAYAPATI, P. JOHN; CRAFTON, COREY, M; ARCHER-DANIELS-MIDLAND COMPANY) 23 May 2002 (2002-05-23) cited in the application abstract page 13, line 17 - line 20 page 47, line 8 - line 12 page 48, line 15 - line 19 tables 1A,2	1-54
X	WO 03/040180 A (BASF AKTIENGESELLSCHAFT; ZELDER, OSKAR; POMPEJUS, MARKUS; SCHROEDER, H) 15 May 2003 (2003-05-15) table 1 page 2, line 4 - line 44 page 5, line 27 - page 6, line 3 sequence 25  ----- -/--	1-7
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.</span> <span><input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.</span> </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Special categories of cited documents:</p> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p> </div> </div>		
Date of the actual completion of the international search  <div style="text-align: center;">22 December 2005</div>		Date of mailing of the international search report  <div style="text-align: center;">23/01/2006</div>
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  <div style="text-align: center;">Huse, I</div>

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/014266

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>PÁTEK M ET AL: "Promoters of <i>Corynebacterium glutamicum</i>" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 104, no. 1-3, 4 September 2003 (2003-09-04), pages 311-323, XP002323247 ISSN: 0168-1656 abstract table 1</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>DATABASE GENESEQ 'Online! 26 September 2001 (2001-09-26), NAKAGAWA S. ET AL.: "C. glutamicum coding sequence fragment SEQ ID No. 7060" XP002359696 retrieved from EMBL Database accession no. AAH68525 the whole document -&amp; EP 1 108 790 A (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD) 20 June 2001 (2001-06-20) sequence 7060</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>TIELEMAN L N ET AL: "Growth phase-dependent transcription of the <i>Streptomyces ramocissimus</i> <i>tuf1</i> gene occurs from two promoters." JOURNAL OF BACTERIOLOGY. JUN 1997, vol. 179, no. 11, June 1997 (1997-06), pages 3619-3624, XP002360417 ISSN: 0021-9193 abstract figure 4 page 3620, right-hand column, paragraph 3</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>AN G ET AL: "Evidence for an internal promoter preceding <i>tufA</i> in the <i>str</i> operon of <i>Escherichia coli</i>." JOURNAL OF BACTERIOLOGY. FEB 1982, vol. 149, no. 2, February 1982 (1982-02), pages 548-553, XP002360418 ISSN: 0021-9193 abstract</p> <p>-----</p>	1-54

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP2004/014266

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0240679	A	23-05-2002	AU	3043102 A	27-05-2002
WO 03040180	A	15-05-2003	BR	0213771 A	19-10-2004
			CN	1582299 A	16-02-2005
			DE	10154180 A1	15-05-2003
			EP	1444258 A2	11-08-2004
			US	2005009152 A1	13-01-2005
			ZA	200404424 A	06-06-2005
EP 1108790	A	20-06-2001	US	2002197605 A1	26-12-2002

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2004/014266

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

C12N15/77 C07K14/34 C12N1/21

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

C12N C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, EMBL, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/40679 A (RAYAPATI, P. JOHN; CRAFTON, COREY, M; ARCHER-DANIELS-MIDLAND COMPANY) 23. Mai 2002 (2002-05-23) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Seite 13, Zeile 17 - Zeile 20 Seite 47, Zeile 8 - Zeile 12 Seite 48, Zeile 15 - Zeile 19 Tabellen 1A,2	1-54
X	WO 03/040180 A (BASF AKTIENGESellschaft; ZELDER, OSKAR; POMPEJUS, MARKUS; SCHROEDER, H) 15. Mai 2003 (2003-05-15) Tabelle 1 Seite 2, Zeile 4 - Zeile 44 Seite 5, Zeile 27 - Seite 6, Zeile 3 Sequenz 25	1-7
	----- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

22. Dezember 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

23/01/2006

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Huse, I

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>PÁTEK M ET AL: "Promoters of <i>Corynebacterium glutamicum</i>"  JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL,  Bd. 104, Nr. 1-3,  4. September 2003 (2003-09-04), Seiten 311-323, XP002323247  ISSN: 0168-1656  Zusammenfassung  Tabelle 1</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>DATABASE GENESEQ 'Online!  26. September 2001 (2001-09-26),  NAKAGAWA S. ET AL.: "C. glutamicum coding sequence fragment SEQ ID No. 7060"  XP002359696  gefunden im EMBL  Database accession no. AAH68525  das ganze Dokument  -&amp; EP 1 108 790 A (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD) 20. Juni 2001 (2001-06-20)  Sequenz 7060</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>TIELEMAN L N ET AL: "Growth phase-dependent transcription of the <i>Streptomyces ramocissimus</i> <i>tuf1</i> gene occurs from two promoters."  JOURNAL OF BACTERIOLOGY. JUN 1997,  Bd. 179, Nr. 11, Juni 1997 (1997-06),  Seiten 3619-3624, XP002360417  ISSN: 0021-9193  Zusammenfassung  Abbildung 4  Seite 3620, rechte Spalte, Absatz 3</p>	1-54
A	<p>-----</p> <p>AN G ET AL: "Evidence for an internal promoter preceding <i>tufA</i> in the <i>str</i> operon of <i>Escherichia coli</i>."  JOURNAL OF BACTERIOLOGY. FEB 1982,  Bd. 149, Nr. 2, Februar 1982 (1982-02),  Seiten 548-553, XP002360418  ISSN: 0021-9193  Zusammenfassung</p> <p>-----</p>	1-54

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014266

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0240679	A	23-05-2002	AU	3043102 A	27-05-2002
WO 03040180	A	15-05-2003	BR	0213771 A	19-10-2004
			CN	1582299 A	16-02-2005
			DE	10154180 A1	15-05-2003
			EP	1444258 A2	11-08-2004
			US	2005009152 A1	13-01-2005
			ZA	200404424 A	06-06-2005
EP 1108790	A	20-06-2001	US	2002197605 A1	26-12-2002